

## MITIGATION OF MYCOTOXINS IN FEEDS AND THEIR ADVERSE IMPACT ON DOMESTIC ANIMALS

**D. Grbeša, Marija Duvnjak, Kristina Kljak**

Pregledno znanstveni članak - Review scientific paper  
Primljeno - Received: 19. svibanj - May 2014

### SAŽETAK

Hrana mora biti slobodna od tvari i mikroorganizama koji ugrožavaju zdravlje ljudi i životinja. Mikotoksini su prepoznati kao jedna od najvećih i najraširenijih opasnosti koja se pojavljuje u cijelom lancu proizvodnje hrane, osobito u stresnim ekstremnim vremenskim prilikama. Nema načina potpunog sprečavanja pojave toksikogenih plijesni i lijekova protiv mikotoksina pa se moraju provoditi složene i sveobuhvatne mjere ublažavanja njihove koncentracije putem (1) smanjenog razvoja patogenih plijesni i produkcije mikotoksina na krmivima tijekom cijelog procesa proizvodnje od polja do valova, (2) odstranjivanja stvorenog mikotoksina s krme ili (3) iz probavnog trakta životinje. Smanjenje pojavnosti i nepovoljnih učinaka mikotoksina zahtijeva objedinjena znanja iz područja biologije usjeva, agronomije, ekologije gljiva, metoda žetve/berbe, skladištenja, prerade krme i strategija detoksikacije. Prevencija rasta plijesni u polju drži se najučinkovitijom metodom kontrole mikotoksina a sastoji se u primjeni plodoreda, navodnjavanja, primjerenom gnojdbi, suzbijanju korova, sjetvi otpornih usjeva, ranijoj sjetvi i žetvi, korištenju netoksičnih sojeva plijesni i drugih mjera. Međutim, u godinama povoljnim za razvoj plijesni niti predžetvene mjere ne otklanjaju mikotoksine iz krme. Porast početne kontaminacije sprečava berba i skladištenje suhog i cjelovitog zrnja koje se propuhuje i elevira te se provode sanitacije i fumigacije skladišta. Fizikalne mjere se provode prije i/ili nakon skladištenja i prije hranjenja životinja, a svode se na uklanjanje većeg dijela najčešće jednog ili nekoliko ali ne i svih prisutnih mikotoksina ljuštenjem, separacijom, sortiranjem, ispiranjem, otapanjem mikotoksina, hidrotermičkom obradom i drugim metodama. Kemijsko tretiranje također različito uspješno uklanja pojedine mikotoksine, a koriste se sljedeća sredstva: kalcij hidroksid, amonij hidroksid, monometilamin, natrij bisulfit, vlažni i suhi ozon, klor, vodikov peroksid, askorbinska kiselina, klorovodična kiselina, benzojeva kiselina, urea, sumporni dioksid, formaldehid, amonijak i amonijev hidroksid, bakar sulfat. U konzerviranju vlažne krme koriste se antifungalne kiseline. Biološke metode obuhvaćaju upotrebu mikroorganizama koji vežu na sebe ili razaraju pojedine mikotoksine, dodaju se netoksične plijesni te mikotoksin razarajući enzimi.

U hranu životinja dodaju se brojne tvari koje sprečavaju apsorpciju mikotoksina, među kojima se najčešće koriste različite silikatne gline koje uspješno vežu aflatoksin ali istovremeno slabo druge mikotoksine dok širi spektar mikotoksina vežu organski adsorbensi. Kao potpora organizmu u ublažavanju nepovoljnih učinaka mikotoksina koriste se dobra hranidbena praksa, dodaju se antioksidansi te tvari koje pomažu metabolizam jetre. Isto tako, istražuje se i mogućnost cijepljenja domaćih životinja. Zaključno možemo reći da samo upotreba združenih mjera u cijelom proizvodnom lancu, a ne pojedinačne mjere, smanjuje razinu mikotoksina u prihvatljive granice za domaće životinje.

**Ključne riječi:** mikotoksini, hrana za životinje, mjere ublažavanja

Prof. dr. sc. Darko Grbeša, e-mail: [dgrbesa@agr.hr](mailto:dgrbesa@agr.hr), Marija Duvnjak, dipl.ing., dr. sc. Kristina Kljak, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za hranidbu životinja, Svetošimunska 25, 10000 Zagreb

## UVOD

Zdravstvena sigurnost hrane je osnovni preduvjet njenog korištenja u EU. Sve viša razina svijesti o mikotoksinima i prijetnje koje oni predstavljaju za zdravlje životinja i naročito ljudi, snažno usmjerava zahtjeve javnosti na zakonsko smanjenje njihove koncentracije na najmanju moguću mjeru te tjera poljoprivrednika u EU u pravcu iznalaženja i uvođenja mjera ublažavanja njihovih nepovoljnih učinaka. Mikotoksini iz hrane za životinje su neposredna opasnost za životinju i posredna za ljude koji konzumiraju animalne proizvode (mlijeko, meso, jaja).

U prirodi postoji preko 400 mikotoksina, a samo za njih pet su zakonom određene najviše dopuštene količine u hrani za ljude i životinje (Pravilnik o nepoželjnim i zabranjenim tvarima u hrani za životinje, NN. 118/07 i 80/2010). Krmiva biljnog porijekla čine 95% hrane za životinje i skoro sva mogu biti kontaminirana mikotoksinima tijekom rasta, berbe, skladištenja, transporta i izrade krmnih smjesa (Pettersson, 2012.). Uzima se da je u prosjeku 25% svjetske proizvodnje ratarskih i industrijskih kultura zaraženo mikotoksinima, od čega preko polovina sadrži više od jednog mikotoksina (Hussein i Brasel, 2001.). Smatra se da mikotoksini uzrokuju u stočarstvu gubitke koji na globalnoj razini iznose nekoliko stotina milijuna dolara (CAST, 2003), a mi procjenjujemo da je kriza aflatoksina u RH u 2013. g. uzrokovala štete od više milijuna eura.

Rizik pojave, rasprostranjenosti i razine kontaminacije je teško predvidjeti jer ovisi o brojnim čimbenicima ovisno o vrsti usjeva (krmiva), vremenskim (ne)prilikama tijekom proizvodnje, primjerenosti agrotehničkih mjera, geografskom području, (ne)primjeni fungicida, (ne)pravilnoj žetvi, (ne)primjerenom konzerviranju i skladištenju te kontaminaciji tijekom proizvodnje krmnih smjesa. Među brojnim navedenim i nenavedenim čimbenicima najveći utjecaj na profil i količinu mikotoksina u ratarskim kulturama ima agrotehnika i klimatski uvjeti (Wicklow, 1995; Bryden, 2009.). Globalno zatopljenje povišuje zaraženost usjeva mikotoksinima (Garrett i sur., 2006; Grbeša i sur., 2012.). Nadalje, u svakom koraku proizvodnje krmiva, okolišni uvjeti uvijek imaju značajan utjecaj na pojavu mikotoksina. U polju su to visoke temperature povezane s previše ili premalo vlage; u skladištu su temperatura i vlaga zrna. Mikotoksini ulaze u životinju skoro isključivo

putem kontaminirane hrane. Drugi mogući put ulaza je inhalacija spora plijesni i dijelova micelija, a treći način je preko stelje od slame žitarica. Nadalje, na mikotoksine su osjetljivije današnje visokoproduktivne nego prijašnje niskoproduktivne životinje. Europska proizvodnja krme uvozi 74% potrebne količine proteinskih krmiva. Stoga sigurnost hrane za životinje u Europi jako ovisi ne samo o zdravstvenoj valjanosti domaće proizvodnje već i o ulasku mikotoksinima kontaminiranih krmiva iz drugih dijelova svijeta (Fink-Gremmels, 2012.).

Posebnosti mikotoksina u odnosu na druge opasnosti su skoro pravilne pojave više mikotoksina zajedno, njihovo aditivno i sinergističko otrovno djelovanje te neravnomjerna, točkasta raspoređenost u hrani i različita osjetljivost domaćih životinja na isti mikotoksin. Mikotoksini čine višestruke ekonomske štete u cijelom proizvodnom lancu jer smanjuju (1) kako prinos ratarskih, krmnih i industrijskih kultura, (2) tako i njihove tržišne i uporabne vrijednosti, (3) visinu animalne proizvodnje i (4) povišuju troškove odstranjivanja i ublažavanja te (5) potpunog uklanjanja kontaminiranih proizvoda iz hranidbenog lanca. Najveće uz mikotoksine vezane probleme u stočarstvu, ne uzrokuju kliničke već niske razine mikotoksina, koje uzrokuju brojne metaboličke smetnje koje kontinuirano i „tiho“ smanjuju proizvodnju životinja. Isto tako stočarstvo suhih i vrućih podneblja EU muče zakonski određene izrazito niske dopuštene koncentracije aflatoksina u krmi za preživače. Teško je procijeniti ukupne štete od mikotoksina. Međutim, samo štete od aflatoksina u animalnoj proizvodnji SAD-a godišnje iznose dvjesto pedeset milijuna dolara, a ukupne su nekoliko puta veće (CAST, 2003).

Nema načina za potpuno sprečavanje pojave plijesni na hrani niti lijeka protiv mikotoksina pa su oni najveća i najraširenija opasnost hrane za životinje za zdravlje ljudi i životinja. Stoga je presudan holistički pristup smanjenja njihove koncentracije putem (1) smanjenog razvoja patogenih plijesni i produkcije mikotoksina na krmivima tijekom cijelog procesa proizvodnje od polja do valova, (2) odstranjivanja stvorenog mikotoksina s krme ili (3) iz probavnog trakta životinje (Grbeša, 2013a.).

Tri su bitna koraka u ublažavanju pojave mikotoksina u procesu proizvodnje krme: prvi korak čine mjere u polju prije pojave toksikogenih plijesni, drugi korak su mjere tijekom invazije plijesni i proizvodnje mikotoksina i treći korak su mjere nakon utvr-

divanja kontaminacije više od zakonom propisanih količina mikotoksina (Jouney, 2007.). Glavnu pažnju treba usmjeriti na prva dva koraka jer jednom kada je mikotoksin prisutan teško i skupo ga je odstraniti u uvjetima prakse. Stoga se u kontroli pojave mikotoksina primjenjuje druga i treća točka HACCP sustava; analiza kritičnih točaka u procesu proizvodnje od polja do valova i utvrđivanje preventivnih mjera (Degirmencioglu i sur., 2005.).

#### ŽITARICE I NJIHOVI NUSPROIZVODI

Žitarice i njihovi nusproizvodi su glavna krma intenzivno hranjenih domaćih životinja u razvijenim državama. Žitarice se najčešće zaraze *Fusarium* plijesnima tijekom cvjetanja. Stoga se na njima najčešće nalaze sljedeći mikotoksini iz grupa: zearalenona, trihotecena, fumonisina, T-2 toksini, DON i nivalenol (Tablica 1). Postoje razlike između žitarica u pojavi pojedinih fusarium mikotoksina pa tako ih skoro sve može sadržavati pšenica, a na tritikale su češće prisutni DON i T-2 toksini, dok zob sadrži više DON-a i nivalenola. Na zrnu kukuruza prevladavaju DON i zearalenon. Globalno zatopljenje i suša povisuju učestalost i jačinu kontaminacije zrna kukuruza *Aspergillus flavus* plijesni u fazi cvatnje i nalijevanja zrnja kada zrno treba puno vode. Europska agencija za sigurnost hrane procjenjuje da će globalno zatopljenje od 2-3°C u Panonskoj nizini i Balkanu dovesti do češćih pojava aflatoksina na zrnu kukuruza. Nadalje, sušenje žitarica (kukuruza) na vlagu od 15%, umjesto 13%, pospješuje bolje mljevenje i konzumaciju ali istovremeno omogućuje razvoj skladišnih plijesni (npr. *Aspergillus flavus*) na kukuruza i proizvodnju aflatoksina. Prirodno sušenje i skladištenje u otvorenim silosima također omogućuje razvoj ne samo *Aspergillus* već i *Penicillium* plijesni pa se u silažama u aerobnim uvjetima često nalazi *Penicillium roqueforti* te druge silažne plijesni (Tablica 1). Iako kasava (manioka, tapioka) nije žitarica, ona je škrobno krmivo koje se dosta koristi u krmnim smjesama u EU. Ova tropska kultura često sadrži zearalenone koji se razvijaju tijekom rasta korijena te aflatoksine koji se proizvode tijekom njenog skladištenja u vlažnim (sup)tropskoj klimi.

Nusproizvodi mlinarstva kao što su posije žitarica (pšenične, zobene i dr.) sadrže znatno više (2-4x) mikotoksina nego žitarice pa se smatraju rizičnim krmivima u kojima treba redovito kontrolirati razinu

fusarium toksina i aflatoksina (Lee i sur., 1987; Seitz i sur., 1985, 1986, Chelkowski i sur., 1982.). Posebno su rizično krmivo zobene posije koje sadrže skoro sve *Fusarium* toksine (Scudamore i sur., 2007.). Otpad od aspiracije i čišćenja zrnja žitarica sastoji se od loma, sitnog zrnja i prašine sa vanjskog omotača te sadrži visoke udjele mikotoksina (Ross i sur., 1991.) i ne bi se smio koristiti u hranjenju životinja.

#### PROTEINSKA KRMIVA

Sačme i pogače uljarica (soje, suncokreta, repice, kikirikija, palme, sezama) su glavni izvor aminokiselina monogastričnim životinjama i dušičnih spojeva preživačima te čine oko 30% krmnih smjesa. Kako Hrvatska i druge države EU uvoze velike količine sačmi i pogača od koji su neke (sojina sačma, sačma kikirikija) proizvedene u tropskoj i suptropskoj klimi i zato često mogu biti inficirane plijesnima *Aspergillus flavus* i *parasiticus* te posljedično sadržavati aflatoksine (Tablica 1.). Iako nusproizvodi uljarica sadrže malo vlage, veliki njen dio je slobodna voda koja pomaže razvoju plijesni i proizvodnji aflatoksina. Nadalje, sačme/pogače tropskih uljarica (kikiriki, palma, kokos) uvoze se iz dalekih zemalja pa dugotrajni prekomorski transport povisuje njihovu vlažnost a time i razvoj plijesni te produkciju aflatoksina (Pittet, 1998; Scudamore i sur., 1997.). Krave hranjene krmnim smjesama koje sadrže sačme/pogače (sup)tropskih uljarica mogu proizvoditi aflatoksično mlijeko.

Kukuruzni gluten i kukuruzno glutensko brašno sadrže gluten, klice i posije koji zaostanu nakon vlažnog mljevenja kukuruza i koriste se u hranidbi peradi i krava muzara. U ovim krmivima se koncentriraju mikotoksini pa mogu sadržavati visoke razine zearalenona, aflatoksina i deoksinivalenola (Scudamore i sur., 1997 i 1998; Veldman i sur., 1992.). Isto tako mikotoksini se koncentriraju i u alkoholnom tropu (DDGS) visokokoličinskom nusproduktu iz proizvodnje bioetanola iz žitarica (Wu i Munkvold, 2008.).

Zrnje krupnozrnih leguminoza kao što su grah, grašak i lupina proizvedene u (sup)tropskoj klimi često sadrži mikotoksine. Grah i grašak mogu imati povišene razine ohratoksina (Domijan i sur., 2005.), a lupina fomopsina (Lacey, 1991.).

**Tablica 1. Povoljni uvjeti za pojavu najvažnijih grupa mikotoksina na krmnim kulturama i njihovim nusproizvodima**

**Table 1 Favorable conditions for the occurrence of the most important group of mycotoxins in forages and their by-products**

Mikotoksin	Povoljni uvjeti za proizvodnju	Krmivo
Aflatoksini	Plijesni se razvijaju u polju tijekom svilanja i nalijevanja zrna. Mikotoksini se proizvode tijekom skladištenja u nepovoljnim uvjetima i češće na oštećenim zrnima	Kukuruz i njegovi nusproizvodi (DDGS, gluten), sačma kikirikija, sirak, riža, pšenica, sačma sjemenki pamuka, sačma koštica palme, sačma soje, kasava
Zearalenoni	Proizvode ga plijesni roda <i>Fusarium</i> kao što su <i>F.graminearum</i> , <i>culmorum</i> , <i>cerealis</i> tijekom vegetacije i skladištenje vlažnog zrnja žitarica i u silazama	Kukuruz, ječam, zob, te pšenica i kasava tijekom vegetacije, silaže kukuruza u polju i silosu, a ostale (trave, leguminoze) samo u silosu. Uskladištena slama žitarica
Trihoteceni (T-2) i hidroksitrihoteceni (HT-2)	Hladno i vlažno vrijeme tijekom vegetacije usjeva žitarica	Ječam, zob, sačma pamuka
Deoksinivalenol (DON)	Prirodno ih proizvode <i>Fusarium graminearum</i> i <i>culmorum</i> tijekom cvjetanja žitarica	Nalazi se na površini zrnja žitarica pa ga ima puno u posijama, a malo u brašnu žitarica. Isto tako razvija se u silaži kukuruza i slami žitarica te paši u kojoj dominiraju trave
Fumonisini	Najčešće se nalaze na zrnu kukuruza gdje ih proizvode plijesni <i>Fusarium verticillioides</i> i <i>proliferatum</i>	Kukuruzno zrno
Roquefortini, patulin i PR-toksini	Proizvode ih plijesni tijekom skladištenja silaža	Silaža kukuruza, trava i leguminoza
Ohratoksini	Javljaju se tijekom skladištenja zrnja žitarica i mahunarki	Kukuruz, ječam, zob, raž, pšenica i njene posije, sačma kikirikija, grašak i grah

#### VOLUMINOZNA KRMIVA

Silaže su glavna voluminozna krma mliječnih krava i ovaca te tovne junadi. Sadrže 4-5 puta više vode od suhe krme (65%: 15% vlage) te su jako sklone kvarenju ukoliko iz njih nije istisnut zrak i dovoljno snižen pH razvijaju se plijesni (Kung, i sur., 2003.). Cilj siliranja je stvoriti uvjete za razvoj dominantno mliječno kiselih bakterija koje iz vodotopljivih šećera proizvode prvenstveno kiseline ali i druge antifungalne spojeve (Batish i sur., 1989). Mliječno - kisele bakterije proizvode pored glavnih kiselina (mliječne, octene i propionske) i druge antifungalne kiseline (mravlja, maslačna, kaproična, n-valerijanska kiselina) i spojeve kao što su ciklički peptidi, dugolančane masne kiseline, ruterin kiseline te brojne produkte octene i propionske kiseline (Schmidt i

Kung, 2010; Crowley i sur., 2013.). Tijekom vegetativnog rasta trave, leguminoze i cijele biljke žitarica mogu se inficirati sporama plijesni prisutnima na zemlji i tako kontaminirati siliranu masu. Osim toga kiša tijekom provenjavanja pospješuje razvoj plijesni u polju. Silaže imaju raznovrsniji sadržaj mikotoksina nego suha hrana. Naime, silaže sadrže plijesni koje potječu kako iz predžetvene kontaminacije uglavnom *Fusarium spp.* tako i mikotoksine posliježetvene kontaminacije s *Aspergillus* i *Penicillium* plijesnima (Garon i sur., 2006; Mansfield i Kulda, 2007.). Mliječne krave konzumacijom silaža unesu 3,5 puta više deoksinivalenola i 2,9 puta više zearalenona nego iz koncentratne hrane (Driehuis, 2008a i b). Nadalje, u nedovoljno zbijenim silazama trava zrak ostaje u sredini bala, vanjskim površinama silaže ili u zračnim „džepovima“ pa se razvijaju

na kiseline rezistentne plijesni *Penicillium roqueforti* koje proizvode nekoliko „silažnih“ mikotoksina među kojima su najopasniji roquefortin C i miko-fenolična kiselina (Auerbach i sur., 1998; Schneweis i sur., 2005.). Isto tako u otvorenim i otkrivenim silažama počinje razvoj *Fusarium* plijesni te plijesni koje proizvode patulin i gliotoksin. U nepravilno siliranim silažama kukuruza kao najrasprostranjenijoj voluminoznoj krmi u Hrvatskoj osim prije navedenih plijesni mogu se javiti u polju u hladnim i vlažnim godinama fusarium toksini i u neprimjereno izuzimanoj masi (aeracija) silažni toksini, a u sušnim godinama kao što je 2013. g. i *Aspergillus flavus* i *parasiticus* te aflatoksini (Grbeša, 2013b.).

### UBLAŽAVANJE

Težina uklanjanja i nemogućnost liječenja čini prevenciju najboljom metodom suzbijanja razvoja plijesni na poljoprivrednim kulturama (Jouney, 2007). Smanjenje pojavnosti i nepovoljnih učinaka mikotoksina zahtijeva objedinjena znanja iz područja biologije usjeva, agronomije, ekologije gljiva, metoda žetve/berbe, skladištenja, prerade krme i strategija detoksikacije (Bryden, 2012.). Zato je prevencija sveobuhvatna i provodi se u svim fazama proizvodnje poljoprivredne kulture (krmiva). Ona obuhvaća radnje u polju prije infekcije kulture sa plijesnima, (2) preventivne mjere tijekom invazije plijesni, (3) primjenu interventnih mjera kada god se utvrdi kontaminacija krmiva.

Pri ublažavanju pojave mikotoksina u hrani za ljude i životinje koriste se sustavi dobre proizvođačke prakse, dobre higijene, dobre skladišne prakse i zajedno s HACCP programom (Hazard Analysis Critical Control Points) primjenjuju se u svim fazama proizvodnje kukuruza, kikirikija, kokosa i kave za ljude (Lopez-Garcia i sur., 2008.). Uvijek trebamo imati na umu da postoje brojne metode koje smanjuju udjel pojedinog mikotoksina, ali nema jedne metode koja bi bila jednako učinkovita u odstranjivanju većeg broja mikotoksina koji se u pravilu pojavljuju zajedno na krmivima (Shapira i Paster, 2004; Grbeša, 2013a i b.).

### PREDŽETVENE MJERE

Preventivne mjere se počinju provoditi od polja jer su svi usjevi, uključujući krmne kulture i žitarice,

podložni napadu gljivica te se prevencija rasta gljivica u polju drži najučinkovitijom metodom kontrole mikotoksina (Smith i Girish, 2012.). Predžetvena strategija svodi se s jedne strane na poljsko smanjenje razvoja plijesni i proizvodnju mikotoksina na najmanju moguću mjeru a s druge strane na porast otpornosti kulture primjenom principa dobre poljoprivredne prakse (Abdel-Wahhab i Kholif, 2008.). Primjena plodoreda, navodnjavanja, primjerena gnojdba, suzbijanje korova, korištenje fungicida itd. mjere su koje se primjenjuju u polju radi prevencije razvoja plijesni i mikotoksina na krmivima (Bryden, 2009.). Mnoge metode utječu na kontaminaciju usjeva, ali čak niti najbolja poljoprivredna praksa ne može potpuno spriječiti kontaminaciju mikotoksini-ma (Jouney, 2007.).

Upotreba fungicida najčešći je pristup sprečavanja zaraze usjeva plijesnima u polju. Međutim, postoji značajna razlika u osjetljivosti pojedinih vrsta *Fusarium* plijesni na fungicide pa tako oni nisu djelotvorni protiv *Fusarium graminearum* (Ewards, 2004; Varga i Toth, 2005.).

Plodosmjena, osobito kukuruza, donekle prekida lanac prenošenja plijesni iz jedne u drugu vegetacijsku sezonu (Kabak i sur., 2006.). Kukuruz je jako osjetljiv na *Fusarium* sp., a žetveni ostaci su najvažniji izvor *F. graminearum*, koji uzrokuje *Gibberella* trulež klipa i produkciju deoksinivalenola (DON). Žetveni ostaci kukuruza značajno doprinose i kontaminaciji pšenice (Dill-Mackay i Jones, 2000; Munkvold, 2003.). Stoga je plodosmjena preporučena mjera kontrole kontaminacije kukuruza DON-om (Payne, 1999; Sutton, 1982.). Preporuča se izmjena kukuruza s djetelinsko travnim smjesama kultura radi ublažavanja pojave *Fusarium* sp. plijesni.

Općenito, ranija sadnja i berba, dublje oranje i navodnjavanje tijekom suše smanjuju zaraženost moljcem i naknadno mikotoksinima u umjerenom klimatskom području, ali ovi učinci jako variraju s godišnjim promjenama vremena tijekom rasta žitarica. Kukuruz gnojen sa 147 kg dušika po hektaru ima manje aflatoksina nego onaj gnojen sa 112 kg/ha (Jones i sur., 1981.). Ranija žetva/berba žitarica može smanjiti razinu mikotoksina (Smith i Girish, 2012.).

Među žitaricama koje se uzgajaju u RH kukuruz je najizloženiji suši pa bi navodnjavanje smanjilo visoke koncentracije aflatoksina u sušnim godinama.



Stres suše djeluje na tri načina: kao prvo smanjuje prirodnu obranu biljke od infekcija, kao drugo smanjenje aktivnosti vode tla posljedično smanjuje rast i aktivnost bakterija, ameba i kompetitivnih gljiva i kao treće potpomaže rast kserofilnih plijesni *A. flavus* i *A. parasiticus*. (Pitt i Hocking, 2009.). Pitt i sur. (2012.) smatraju da je bez navodnjavanja kukuruza i ostalih predžetvenih mjera teško spriječiti razvoj toksigenih *Aspergillus* plijesni.

Selekcija lokalnih kultivara otpornih na plijesni ili njihovo stvaranje genetskom modifikacijom su mjere od kojih se puno očekuje ali, za sada, daju mršave rezultate. Problem je što su prvi niskoprikladni, a drugi su GM biljke. Vrlo je teško dobivanje genetski prirodno, na toksigene plijesni dovoljno otpornih usjeva (Trigo-Stockli 2002.) Nadalje stvaranje otpornih hibrida konvencionalnom selekcijom je vremenski zahtjevno i uvijek je povezano sa smanjenjem poželjnih svojstava pa se vjerojatno nikada neće stvoriti hibrid koji je istovremeno visokoprikladan, visokohranjiv i visokootporan na toksigene plijesni (Bailey i sur., 2006.). Osim toga, u za plijesni povoljnim uvjetima i lokalno otporni kultivari se mogu znatno kontaminirati pa možemo govoriti samo o selekcijskom ublažavanju pojave plijesni i produkcije mikotoksina (Cleveland i sur., 2003.).

Međutim, neka sortna svojstva zrnja žitarica pridonose manjoj kontaminaciji mikotoksinima od drugih. Abiotiski i biotski stres su povezani s oksidativnim stresom pa se pokazalo učinkovito djelovanje antioksidansa u sprečavanju razvoja plijesni (Jayashree i Subramanyam, 2000; Kim i sur., 2008.). Istraživanja Bakan i sur. (2003.) pokazuju da topljivi fenoli (ferulična, kafeična, salicilna kiselina i drugi), zrna kukuruza inhibiraju razvoj *F. graminearum* i tvorbu trihotecena. Općepoznato je da su fenoli snažni antioksidansi koji kontroliraju rast i razvoj *A. flavus* i *parasiticus* plijesni na zrnju kukuruza. U prilog ovome idu i naša neobjavljena preliminarna istraživanja koja pokazuju niži sadržaj ferulične kiseline (sastojak fenola) u zrnju kukuruza jako zaraženom aflatoksinom. Postoji vjerojatnost da bi selekcija kukuruza na viši sadržaj fenolnih spojeva kao što je sadržaj ferulične kiseline u perikarpu i klici pripomogla ublažavanju kontaminacije zrnja kukuruza aflatoksinom. Nije jasno da li ferulična kiselina kao sastojak lignina smanjuje kontaminaciju kao kemijska barijera ili/i kao snažni antioksidans. Isto tako i neka druga svojstva su fizička zaštita zrnja. Tako je uočeno da

na plijesni otpornije zrnje ima deblji perikarp i više caklavog endosperma od zaraženog zrnja kukuruza (Hoenisch i Davis, 1994.). Nadalje, hibridi kukuruza s višim udjelom caklavog endosperma (polutvrđunci, kvalitetni zubani) se tijekom manipulacije manje lome od zrnja s višim udjelom brašnjavog endosperma pa su samim time manje pogodan medij za rast plijesni (Bútron i sur., 2009.). Odnos između fizičkih i mehaničkih svojstava uzgoja kukuruza i razaze *Fusarium* plijesnima pokazuju da su hibridi sa višim udjelom mekanog endosperma skloniji zaražama plijesnima i mnogo lakše u njih prodiru insekti koji potpomažu zarazu. Hrvatski Bc hibridi kukuruza se znatno razlikuju po sadržaju kako fenola tako i udjelu caklavog u ukupnom endospermu pa bi selekcija na navedena svojstva mogla doprinijeti manjoj kontaminaciji zrna (Grbeša i sur., 2005a; Kljak i sur., 2009.) Nadalje, McMillian i sur. (1987.) su našli manju kontaminaciju aflatoksinom varijeteta kukuruza koji su imali pripijenu (zatvorenu) komušinu u dvije od tri ispitivane godine. Međutim, nije utvrđeno da li zatvorena komušina smanjuje ili povećava kontaminaciju kukuruza drugim mikotoksinima. Osim toga, u genom usjeva ubacuje se set gena za sintezu enzima koji sprečavaju stvaranje ili razaraju nekoliko mikotoksina (Kabak i Dobson, 2009.). Higa-Nishiyama i sur. (2005.) su ubacili gene ZHD101 iz gljivice *Clonostachys rosea* u lišće riže. Ekstrakt lišća je razarao zearalenon i to svojstvo je zadržano i u sljedećim generacijama transgenetske riže.

Danas je pažnja u smanjenju kontaminacije usjeva usmjerena manje na selekciju otpornih hibrida a više na selekciju i primjenu nepatogenih biokompetitivnih sojeva mikroorganizama (Kabak i Dobson, 2009.). Tako se već koriste mnogi nepatogeni sojevi *Aspergillus flavus* i *parasiticus* koji preko kompetitivne ekskluzije smanjuju broj patogenih sojeva *Aspergillus sp.* na zrnju žitarica (Smith i Girish, 2012) (vidi biološke metode).

Pored stresa biljke uzrokovanog sušom i visokim temperaturama, oštećenja zrnja insektima najviše pridonose infekciji kukuruza s *A. flavus* i *A. parasiticus* (Pitt, 2004.). Zdravo i cjelovito zrnje je otpornije na zaraze plijesnima u polju i skladištu jer je uobičajeni put naseljavanja plijesni kroz fizička i insektima uzrokovana oštećenja. Što je više zrnja oštećeno i što su pojedinačna zrna jače oštećena to je moguća u njima veća količina mikotoksina. Stoga je zrnje koje su oštetili insekti, ptice i druge štetoci-

ne, kako u polju tako i u skladištu, sklonije zarazama plijesnima (Teller i sur., 2012.).

#### ŽETVENE I POSLIJEŽETVENE MJERE

Često je iz raznih razloga teško primijeniti predžetvene mjere, a pored toga sva uskladištena krmiva su pogodan supstrat za ponovni rast plijesni i proizvodnju mikotoksina. Na skladišni razvoj plijesni djeluju aktivitet vode krmiva, temperatura, vlažnost sredine, sastav plinova, prisutnost konzervansa i međudjelovanja mikroorganizama (Varga i Toth, 2005.). Teško se smanjuje jednom proizvedena količina mikotoksina jer su oni stabilni spojevi (Cole, 1986a.) pa je važno imati strategije sprečavanja daljnje zaraze i akumulacije mikotoksina u skladištu. U tu svrhu koriste se brojne fizičke, kemijske i biološke mjere (Jouney, 2007; Kabak, 2009.).

Pored zrnja oštećenog u polju insektima i drugim štetočinama treba spriječiti njihova daljnje oštećenja tijekom ubiranja, transporta i sušenja jer je slomljeno i napuklo zrno dobar medij za razvoj plijesni (Binder, 2007.). Prije sušenja zrnja treba provesti aspiraciju, uklanjanje prašine, loma i nečistoća te postupak abrazije radi smanjenja koncentracije mikotoksina na zrnju i sprečavanja njihove dodatne produkcije. Bitne mjere za smanjenje zaraze plijesnima su fiziološko stanje zrnja u vrijeme žetve, vlažnost prije i nakon sušenja te temperatura nakon sušenja (Frisvad, 1995; Wicklow, 1995.). Među njima je vlažnost zrnja najvažniji pojedinačni čimbenik ograničenja rasta plijesni. U prosjeku metabolizam plijesni treba aktivnost vode 0,65 pri čemu *Aspergillus* plijesni rastu i pri nižoj aktivnosti vode (<13% vlage), a *Fusarium* plijesni trebaju znatno višu aktivnost vode (Ono i sur., 2002; Jouney, 2007.).

Pažljivim manipuliranjem ubranih usjeva treba smanjiti udjel loma i napuklih zrna jer su ona zajedno sa zrnima oštećenim u polju insektima i drugim štetočinama dobar medij za plijesni (Binder, 2007.).

Naša neobjavljena istraživanja na 120 uzoraka aflatoksinima kontaminiranog zrna kukuruza iz berbe 2012. g. pokazuju da su *Aspergillus* plijesni rastle pri sadržaju vlage do 13% i aktivitetu vode 0,63 i proizvele 0,259 mg/kg aflatoksina, a najveća dopuštena količina je 0,02 mg/kg. Zrnje kukuruza iz sušnih godina i zaraženo *Aspergillus* plijesnima trebalo bi sušiti na manje od 13% vlage, a aktivitet vode bi

trebao biti manji od 0,63 da bi se spriječilo daljnje stvaranje i akumulacija aflatoksina. Međutim, Pravilnikom o katalogu krmiva (NN, 76/12 od 09.07.2012) propisana je obaveza deklariranja sadržaja vlage većeg od 14%, što sprečava rast *Fusarium* ali ne i *Aspergillus* plijesni u uskladištenom kukuruzu.

Razrjeđenje mikotoksinima kontaminirane s nekontaminiranom krmom je najjednostavniji i najrašireniji način dekontaminacije u praksi. Međutim, korištenje i razrjeđivanje krme višim od zakonom dopuštenih koncentracija mikotoksina nije dozvoljeno u nekim državama (Bryden, 2012.).

#### FIZIKALNE METODE

Fizikalne mjere kao što je ljuštenje, separacija na temelju težine, sortiranje, ispiranje, otapanje mikotoksina, ultrazvuk i zračenje te zagrijavanje koriste se u smanjenju koncentracije nekih mikotoksina na zrnju žitarica, ali povećavaju se u njihovim nusproizvodima (Kabak i sur., 2006; Meister i Springer, 2004.). Primjera radi, ljuštenje kontaminiranog zrnja kukuruza smanjuje za 92% sadržaj aflatoksina i 60% fumonisina u brašnu (Siwela i sur., 2005), ali povećava u posijama.

U pravilu samo je manji broj zrnja zaraženo plijesnima i mikotoksinima pa obećavaju različite metode odvajanja zaraženog i oštećenog zrnja jer se tako smanjuje razina mikotoksina na prihvatljivu a ne smanjuje se njihova hranjivost i zdravstvena ispravnost (Dorner, 2008.). Odvajanje kontaminiranog od zdravog zrnja smanjuje za 40-80% sadržaj aflatoksina (Fandohan i sur., 2006.) u kukuruzu. Visokobrzinsko sortiranje zrnja kukuruza smanjuje sadržaj aflatoksina za 81%, a fumonisina za 85% (Pearson i sur., 2004.).

U pravilu samo se proteinska krmiva (sojino zrno) i neke vrste krmnih smjese kratko vrijeme podvrgavaju obradi na visokim temperaturama tijekom tostiranja, ekspandiranja i ekstrudiranja. Međutim, ne preporučuje se dugotrajna obrada krmiva na visokim temperaturama i pritiskom iako oni razaraju mikotoksine, jer istovremeno smanjuju hranjivost krmiva (Samarajeewa i sur., 1990.). Tako su Yumbe-Guevara i sur. (2003.) postigli 90% razaranja *Fusarium* toksina uključujući zearalenon, deoksinivalenol i nivalenol pri zagrijavanju ječma na 220°C tijekom 25 minuta što je istovremeno imalo negativne učinke

jer je smanjilo hranjivu vrijednost i stvorilo toksične spojeve.

#### KEMIJSKE METODE

U uklanjanju mikotoksina korištena su s različitom uspješnošću brojna anntifungalna kemijska sredstva kao što su: kalcijev hidroksid, amonijev hidroksid, monometilamin, natrijev bisulfid, vlažni i suhi ozon, klor, vodikov peroksid, askorbinska kiselina, klorovodična kiselina, benzojeva kiselina, urea, sumporni dioksid, formaldehid, amonijak i amonijev hidroksid, bakar sulfat (Galvano i sur., 2001; Smith i Girish, 2012, Grbeša i sur. 2013c). Ove se metode koriste s različitim uspješnošću u odstranjivanju aflatoksina, trihotecena i zeralenona (Schatzmayer i sur., 2006.). Tako su se u potpunom odstranjivanju aflatoksina pokazali uspješni amonijak, propionska i benzojeva kiselina (Norred i sur., 1991). Suprotno ovome mravlja kiselina može promovirati stvaranje aflatoksina (Holmberg i sur., 1989). Pri kemijskom tretiranju vodom bogatih krmiva (neosušeno zrnje žitarica, nusproizvodi pivarstva i proizvodnje alkohola i drugi) mogući je ulazak zraka koji omogućuje da se u toj mikrolokaciji razviju plijesni, kao na primjer *Penicillium roqueforti*. Pri korištenju navedenih kemikalija treba paziti na moguće stvaranje toksičnih spojeva, njihovu visoku cijenu te smanjenje hranjive vrijednosti tretiranih krmiva.

Među herbalnim ekstraktima ulje klinčića potpuno koči razvoj *Aspergillus* plijesni i produkciju aflatoksina, a uspješna su još ulja bijelog i crvenog luka, te kurkume. Fenoli su grupa od preko 4000 različitih flavonoida u biljkama, a za neke je dokazano da imaju inhibitorno djelovanje na plijesni kao što je *F. verticilliioides* ili razaraju FB1 (Beekrum i sur., 2003.). Topljivi fenoli izolirani iz klice kukuruza inhibiraju *in vitro* razvoj trihotecena na zrnju kukuruza (Bakan i sur., 2003.).

#### BIOLOŠKE METODE

Brojni mikroorganizmi među kojima su mliječno kisele, propiobakterije te bifidobakterije te kvasci vežu na sebe ili posjeduju enzime koji razgrađuju aflatoksine i neke *Fusarium* plijesni (Yoon i Baek, 1999; El-Nezami i sur., 2002.). Tako aflatoksine razaraju sljedeće bakterije: *Flavobacterium aurantiacum* B-184, *Nocardia corynebacterioides*, *Nocardia aste-*

*roides* IFM 8, *Mycobacterium fluoranthenivorans* sp. nov. *Rhodococcus erythropolis*. Nadalje, mogu se dodavati sojevi plijesni iz roda *Aspergillus* ali koji ne proizvode aflatoksine (npr. *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. parasiticus*) i druge filamentozne gljive (npr. *Eurotium herbariorum*, *Rhizopus* sp.) koje tada vrše biotransformaciju aflatoksina (Tejada-Castaneda i sur., 2008.). Nadalje dodaju se plijesni: *Aspergillus niger*, *Eurotium herbariorum*, *Rhizopus* sp., i plijesan *A. flavus* i *A. parasiticus* koja ne proizvodi aflatoksine.

Isto tako u razaranju zearalenona i ohratoksina pokazali su se uspješni deaktivirani kvasci *Trichosporon mycotoxinivorans* MTV 115 izolirani iz crijeva termita. Pored netoksičnih plijesni danas se koriste enzimi izolirani iz *Rhizopus stolonifer* i *Aspergillus fumigatus* u sprečavanju stvaranja mikotoksina u skladištima (Smith i Girish, 2012.). Neke bakterije na sebe fizički vežu zeralenon, deoksinivalenol i diacetoksiscirpenol.

#### ADITIVI

Najčešće je neizvediva ili nepraktična dekontaminacija i detoksifikacija krmiva prije izrade krmnih smjesa ili direktnog hranjenja životinja. Zato je umješavanje adsorbensa koji vežu mikotoksin u krmnim smjesama/obrocima prije hranjenja i/ili vežu u probavnom traktu najčešća i najraširenija metoda odstranjivanja mikotoksina, odnosno sprečavanja njihovog ulaska u metabolizam (otrovanja) i preko njega u proizvode životinja (Avantaggiato i sur., 2007., Phillips i sur., 2008.). Aditivi bi trebali (1) vezati mikotoksine na sebe ili ih (2) razoriti u optimalnim uvjetima kiselosti, vlažnosti, temperature u probavnom sustavu te (3) odstraniti putem brže probave i pasaže hrane (bentonit).

Kao što je već rečeno nema metode niti aditiva koji bi bio jednako učinkovit u odstranjivanju svih prirodno prisutnih mikotoksina na jednom krmivu pa se uvijek mora naglasiti uspješnost aditiva u odstranjivanju pojedine vrste i količine mikotoksina.

#### ADSORBENSI

Najčešći aditivi koji se koriste u ublažavanju ulaska mikotoksina u metabolizam životinje su adsorbensi (Galvano i sur., 2001.). Učinkoviti adsorbensi bi trebali vezati veće količine različitih



mikotoksina, ali ne i hranjivih tvari (vitamini, mikroelementi) te ne bi smio biti visok njihov udjel u krmnoj smjesi ili obroku domaćih životinja. Nadalje, oni ne smiju sadržavati dioksine i teške metale Cd, Pb, Hg. Važno je znati da adsorbensi mikotoksina u pravilu vežu samo umjerene količine mikotoksina pa se krmivima s visokim dozama mikotoksina ne smiju hraniti domaće životinje. Kao veziva i razarači mikotoksina koriste se anorganske i organske tvari te enzimi.

U preglednim radovima vodećih autoriteta u području adsorbenas (Huwig i sur., 2001; Jouney, 2007; Oguz, 2011.) najviše se u odstranjivanju mikotoksina koriste od anorganskih vezača silikatne gline, aktivni ugljen i polivinilpolipirolidon (PVPP). Gline su silikatni minerali u koje među vezivima ubrajamo prirodne (klinoptiloliti) i sintetske zeolite (zeolit A), bentonite i sintetske hidratizirane natrij, kalcij - aluminosilikate (HSCAS) i druge. Organski adsorbensi su brašno lucerne, mananoligosaharidi, aktivni ugljen, ligninom bogata vlakna, klorofil i drugi.

Kako svaki aditiv nije jednako učinkovit u odstranjivanju svih mikotoksina u daljnjem tekstu će se radi kratkoće prikazati samo njihova učinkovitost u odstranjivanju aflatoksina.

## ANORGANSKI ADSORBENSI

*Aluminosilikati* su negativno nabijene mrežastokavezne strukture koje privlače katione (pozitivno nabijene čestice) aflatoksina, aminokiselina, vitamina i minerala. Međutim, moraju se davati u velikoj količini (1-5%) u krmne smjese, što je problem jer mogu sadržavati otrovne dioksine i teške metale. Aluminosilikati su visokoselektivni vezači aflatoksina i slabo vežu druge mikotoksine (Phillips, 1999.).

*Pročišćene gline* imaju električni naboj koji odgovara električnom naboju aflatoksina te na taj način vežu 80-90% aflatoksina. Što je viša razina aflatoksina to potrebna razina pročišćene gline raste s 0,5 na 2,5 kg/t hrane.

*Zeoliti* su vulkanski negativno nabijeni aluminosilikati ( $\text{SiO}_4^{4-}$  i  $\text{AlO}_4^{5-}$ ) u čijoj mrežastoj strukturi se nalaze pozitivno nabijene čestice (kationi)  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  koje se zamjenjuju s pozitivno nabijenim aflatoksinima. Kako ima 45 vrsta i 120 varijanti što prirodnih što umjetnih zeolita oni jako promjenljivo

vežu aflatoksine pa treba biti oprezan s njihovim davanjem u obrok krava. Zeoliti, u pravilu slabo vežu manje polarne spojeve kao što su *Fusarium* toksini (Tomašević-Canević i sur., 2003.). Prema istim autorima modifikirani zeoliti *in vitro* vežu aflatoksine, zearalenon, ohratoksin, deoksinivalenol.

*Bentoniti* (kalcij bentonit, natrij bentonit, kalij bentonit, magnezij bentonit, organofilni (modificirani) bentonit, kiselinom tretirani bentonit te drugi) su jedni od najkvalitetnijih vezača aflatoksina koji se dodaju u hranu svih vrsta domaćih životinja. Montmoriloniti imaju svojstvo bubrenja i glavni su sastojak bentonita. Svi imaju dobar kapacitet izmjene kationa pa prema nekim istraživanjima dobro, a prema drugima loše vežu aflatoksin. Stavljanje u hranu 1,2% natrij bentonita smanjuje koncentraciju aflatoksina M1 u mlijeku za 50-65%, dok isti udjel kalcij bentonita smanjuje za 31%. Bentonit smanjuje apsorpciju aflatoksina sa 3% na 2,2%. Preporučuje se, ovisno od udjela aflatoksina u obroku i trajanja hranjenja krava s njime da obrok umjerene kontaminacije < 5 mikrograma/kg sadrži 20-50 g bentonita po kravi dnevno. Visoke doze (5% u smjesi) bentonita vežu i T-2 toksin. Organofilni modificirani montmoriloniti ne vežu zearalenol i deoksinivalenol u probavilu peradi i svinja (Döll i sur., 2005.).

*Hidratizirani natrij, kalcij-aluminosilikati* (HSCAS) dobivaju se iz prirodnih zeolita i najviše su korišteni adsorbensi aflatoksina. HSCAS imaju negativno nabijena mjesta na koja se veže aflatoksin. Međutim, HSCAS slabo ili nikako vežu zearalenol, ohratoksin i trihitocene (Ramos i Hernandez, 1997.). Kako se stavljaju u hranu u visokoj (0,5-2%) koncentraciji smanjuje se u smjesama udjel energetskih krmiva.

*Dijatomejska (kremena) zemlja*, prirodna silikatna sedimentna stijena nastala taloženjem skeletnih ostataka (frustula) dijatomeja, mikroskopskih jednostaničnih vodenih biljaka (algi kremenjašica) također se pokazala uspješna u vezivanju aflatoksina i ublažavanju njegovih nepovoljnih učinaka na perad

Generalno se može reći da su gline specifične za aflatoksine, ali ne i za *Fusarium* toksine. Anorganski adsorbensi vežu najčešće aflatoksine, ali ne i većinu mikotoksina (Ramos i Hernandez, 1997). Organski adsorbensi u odnosu na anorganske učinkovito vežu više mikotoksina, razgrađuju se u gnojnu i ne sadrže teške metale i dioksine.

## ORGANSKI ADSORBENSI

*Aktivni ugljen* se dobiva pirolizom organske tvari što daje veliku površinu maloj masi. Većina aktivnog ugljena na tržištu ima milijune otvorenih pora između atoma ugljena pa gram ima površinu od 500 do 3500 m<sup>2</sup> (Huwang i sur., 2001.). Aktivni ugljen je visoko adsorptivni prah koji se upotrebljava u liječenju ozbiljnih intoksikacija. Isto tako pokazao se uspješan u uklanjanju visokih doza aflatoksina (Edrington i sur., 2001). Učinak dvije vrste aktivnog ugljena pri udjelu od 2% u suhoj tvari obroka mliječnih krava pokazao je suprotne učinke. Jedan se pokazao visoko, a drugi potpuno neučinkovit u smanjenju količine aflatoksina M1 u mlijeku. Zbog izrazito različitog vezanja aflatoksina, potencijalnog vezanja hranjivih tvari (sintetskih vitamina i aminokiselina) i stvaranja zacrnjenih smjesa aktivni ugljen se malo koristi kao vezač-adsorbens u hranidbi životinja (Smith i Girish, 2012.).

*Polivinilpolipirolidin* (PVPP) je kemijski inertan spoj bogat unakrsno povezanim polivinilpirolidonima (PVP). PVPP je lagan prašak koji veže atmosfersku vodu u količini koja odgovara 40% od njegove težine. Ovaj visoki adsorpcijski kapacitet formira hidrirani omotač oko čestica PVPP koje privlače polarne čestice aflatoksina B1, ali ne i deoksinivalenola. Udjel od 0,5 g/kg hrane veže na sebe 50 µg aflatoksina B1 (Thalib, 1995.).

*Kolestiramin* je kao i PVPP polimer koji učinkovito veže nekoliko mikotoksina. Tako je do sada utvrđeno da veže zearalenon, fumonisine i ohratoksin, međutim, zbog njegove visoke cijene upitno je njegovo korištenje u hranidbi životinja (Bauer, 1994; Avantiagato i sur., 2003.).

*Klorofilin* je vodotopljivi pripravak klorofila zelenih biljaka i dobro veže aflatosin. Smjesa klorofilina i kitosana (poliglukozamin) stvara netopljivi, solima sličan materijal koji dobro veže policikličke tvari kao što je aflatoksin B1 (Dashwood i sur., 1998.).

*Mikronizirana neprobavljiva vlakna* su dobivena od neprobavljivih vlakana (ljuske i perikarpa) pšenice, ječma, zobi, graška, ligninom bogatih vlakna lucerne ili pulpe jabuke i drugih sirovina. Sastoje se od celuloze, hemiceluloze i lignina koji su jako praškasto samljeveni na veličine čestica od oko 100 mikrona. Vlakna vežu na sebe mikotoksine i tako sprečavaju njihovu apsorpciju. Čini se da mikronizirana vlakna lucerne vežu T-2 toksin i zearalenon te

ohratoksin, ali ne i aflatoksin B1. Vlakna pšenice u količini od 1% u hrani značajno smanjuju nepovoljne učinke ohratoksina u svinja (Audia i sur., 2009.). Da bi bila učinkovita, mikronizirana vlakna se moraju dodavati u visokoj koncentraciji za aditive (>1%), a afinitet prema pojedinim mikotoksinima ovisan je od sirovine iz koje su ona dobivena.

*Humična kiselina*, odnosno njen derivat oksihumat pokazuje visoki afinitet vezanja aflatoksina u in vitro otopinama (Van Rensburg i sur., 2006.). Oksihumat ublažava utjecaj visokih doza aflatoksina na zdravlje i rast pilića u tovu. Nisu utvrđivana njegova sposobnost vezanja drugih mikotoksina i učinkovitost u drugim vrsta domaćih životinja.

*Polimeri glukomanana stanične stijenke kvasca* su organski adsorbensi mikotoksina (GMA) koji potječu iz soja *Saccharomyces cerevisiae* 1026. Čini se da su D-glukani (sadrže ih glukomanani) onaj sastojak stijenke kvasca koji veže *Fusarium* mikotoksine, aflatoksin, ohratoksin te „silažne“ mikotoksine (Dawson i sur., 2001; Chowdhury i Smith, 2004; Jooney, 2007.) i djeluju u svih vrsta domaćih životinja (Devegowda i sur., 1994.). Čini se da su GMA učinkoviti i pri visokim koncentracijama jer vežu preko 60%, često 95% prisutnog aflatoksina (Devegowda i sur., 1996.). Za razliku od anorganskih veziva GMA se daju u malim količinama (0,05%) ili pri početku davanja u prvih tjedan dana 30, nakon toga 20 zatim 10 g/d/kravi. Polimeri glukana ne sadrže teške metale i dioksine.

Čini se da su anorganski adsorbensi specifični za jedan mikotoksin, uglavnom aflatoksin dok organski osobito GMA vežu više toksina. Dodatna im je prednost što se dodaju u malim količinama, ne vežu hranjive tvari i ne sadrže teške metale i dioksine, a nedostatak GMA je njihova visoka cijena.

Danas se sve više koriste različite kombinacije mješavina tvari kao što su mješavine GMA s jednim anorganskim adsorbensom (bentonit) te s dodanim enzimima i/ili mikroorganizmima koji razaraju mikotoksine.

## HRANIDBENA POTPORA

Proteinske i vitaminske potrebe brojerskih pilića rastu tijekom aflatoksikoze (Smith i sur., 1971.). Zato hranjenje povišenim razinama hepatoprotektivnog metionina i cistina smanjuje aflatoksinom uzro-

kovane lezije jetre u štakora. (Baptista i sur., 2008), Nadalje, dodavanje omega tri nezasićenih masnih kiselina i biotina uklanja mnoge nepovoljne učinke toksina na piliće (Veltmann i sur., 1981; Lanza i sur., 1981; Bryden i sur., 1979.). Aflatoksin i ohratoksin uzrokuju lošiju apsorpciju i metabolizam vitamina D i kalcija što uzrokuje veću lomljivost kostiju pilića i ljuske jajeta (Devegowda i Ravikiran, 2009) pa je pri opasnosti od aflatoksikoze u peradi poželjno imati njihove povišene razine u hrani.

Na temelju rečenoga moglo bi se zaključiti da manjak hranjivih tvari čini farmske životinje manje otpornima na nepovoljne učinke mikotoksina. Međutim, životinje reagiraju različito na manjak pojedinih vitamina. Na primjer manjak vitamina D i riboflavina čini, a manjak vitamina E i K ne čini piliće osjetljivima na aflatoksine, dok tiamin ima zaštitnu ulogu (Hamilton i sur., 1974.). Naspram ovome manjak vitamin A usporava razvoj aflatoksikoze u pilića (Reddy i sur., 1973.).

Općenito je prihvaćeno da prirodni kao i antioksidansi dodani u krmne smjese ublažavaju nepovoljne učinke mikotoksina na domaće životinje (Surai, 2002.). Dodavanje u krmne smjese i uljima bogata krmiva sintetskog antioksidansa butiliranog hidroksitoluena (BHT) štiti purane, životinje najosjetljivije na aflatoksin, od njegovog negativnog učinka (Rawal i sur., 2010.). Dobro je poznato da dodavanje antioksidanata vitamina A, C i E ublažava djelovanje oksidativnog stresa i ublažava učinke aflatoksina na ljudske limfocite (Alpsoy i sur. 2009.). Aminokiseline također sudjeluju kao sastojci antioksidanta funkcionalnih oksidaza uključenih u razaranje aflatoksina u organizmu (Coffey i sur., 1989.).

Na primjeru mliječnih krava pokazat ćemo učinke primjene dobre hranidbene prakse na smanjenje biodostupnosti aflatoksina. Mikroorganizmi buraga razore 98-99% hranom unesene količine aflatoksina te je vrlo važno zdravlje buraga, a acidoza (pH buraga < 5,8) povišuje apsorpciju aflatoksina s 1,7% na 6-10% ili pet puta. Zato je bitno spriječiti pojavu (sub) kliničke acidoze hranjenjem krava sa: (1) do 25% škroba, (2) primjerenom količinom (32-35%) ujednačeno dugačkih vlakana (2 cm), (3) dodavanjem natrij bikarbonata (150 g/d) i živih kultura kvasca.

Nepovoljne učinke aflatoksina na kravu može ublažiti i dodavanje antioksidanasa (280 IJ vitamin A

po kilogramu težine krave, 1000 mg/d vitamina E), biopleksa (organskih kompleksa mikrolemenata koji treba u suhoj tvari obroka sadržavati (mg/kg) 20 Cu, 40-60 Zn, 0,3 Se i 50 Mn). Nadalje primjerena količina metaboličkog proteina (12% u suhoj tvari) pomaže oksidazama u transformaciji aflatoksina u manje toksične metabolite. Nadalje, uspješnim se pokazalo i dodavanje limitirajućih aminokiselina metionina i lizina u ublažavanju nepovoljnih učinaka aflatoksina.

## DRUGE STRATEGIJE

Cijepljenje životinja izloženih djelovanju mikotoksina putem unošenja drugih toksina ili imunih tijela je obećavajuća metoda, međutim sporo daje rezultate koji su često razočaravajući te za sada nema praktičnu primjenu (Cheeke, 1998).

## LITERATURA

1. Abdel-Wahhab, M.A., Kholif, A.M. (2008): Mycotoxins in animal feeds and prevention strategies: a review. *Asian J. Anim Sci*, 2:7-25.
2. Alpsoy, L., Yildirim, A., Agar, G. (2009): The antioxidant effects of vitamin A, C, and E on aflatoxin B<sub>1</sub>-induced oxidative stress in human lymphocytes. *Toxicol Ind Health*, 25:121-127.
3. Aroshi, F., Rizzo, A., Westermarck, T., Ali-Vehmas, T (2002): Antioxidant nutrients and mycotoxins. *Toxicology*, 180:151-167.
4. Aoudia, N., Callu, P., Grosjean, F., Larondelle, Y. (2009): Effectiveness of mycotoxin sequestration activity of micronized wheat fibres on distribution of ochratoxin A in plasma, liver and kidney of piglets fed a naturally contaminated diet. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 1485-1489.
5. Auerbach, H., Oldenburg, E., Weissbach, F. (1998): Incidence of *Penicillium roqueforti* and roquefortine C in silages. *J. Sci. Food Agric*, 76: 565-572.
6. Audia, N., Callu, P., Grosjean, F., Larondelle, Y. (2009): Effectiveness of mycotoxins sequestration activity of micronized wheat fiber on distribution of ochratoxin A in plasma, liver and kidney of piglets fed a naturally contaminated diet. *Food Chem Technol*. 47:1485-1489.
7. Avantiaggiato, G., Havenaar, R., Visconti, A. (2003). Assessing the zearalenone-binding activity of adsorbent materials during passage through a dynamic in vitro gastrointestinal model. *Food and Chemical Toxicology*, 41: 1283-1290.

8. Avantaggiato, G., Havenaar, R., Visconti, A. (2007): Assessment of the multimycotoxin-binding efficacy of a carbon/aluminosilicate-based product in an *in vitro* gastrointestinal model. *J. Agric Food Chem*, 55: 4810-4819.
9. Bailey, C.A., Latimer, G.W., Barr, A.C., Wigle, W.L., Haq, A.U., Balthrop, J.E., Kubena, L.F. (2006): Efficacy of montmorillonite clay (NovaSil PLUS) for protecting full-term broilers from aflatoxicosis. *J. Appl Poult Res*, 15: 198-206.
10. Bakan, B., Bily, A.C., Melicon, D., Cahagnier, B., Regnault-Roger, C., Philogene, B.J.R., Richard-Molard, D. (2003): Possible role of plant phenolic in the production of trichothecenes by *Fusarium graminearum* strains on different fractions of maize kernels. *J. Agric. Food Chem*. 51: 2826-2831.
11. Baptista, A.S., Abdalla, A.L., Aguiar, C.L., Baptista, A.A.S., Micheluchi, D., Zampronio, A.C., Pires, D.S., Gloria, E.M., Calori-Domingues, M.A., Walder, J.M.M., Vizioli, M.R., Horii, J. (2008): Utilization of diets amended with yeast and amino acids for the control of aflatoxicosis. *World J Microbiol Biotechnol*, 24: 2547-2554.
12. Batish, V. K., Grover, S., Lal, R. (1989): Screening lactic starter cultures for antifungal activity. *Cultured Dairy Products Journal*, 24: 23-25.
13. Bauer, J. (1994): Moglichkeiten zur Entgiftung mykotoxin-haltiger Futtermittel. *Monatshefte fur Veterinarmedizin*, 49, 175-181.
14. Beekrum, S., Goviden, Padayacje, R., Odhay, B. (2003): Naturally occurring phenols: a detoxification strategy for Fumonisin B<sub>1</sub>. *Food Additives and Contaminants*. 20(5): 490-493.
15. Binder, E.M. (2007): Managing the risk of mycotoxins in modern feed production. *Animal Feed Sci. and Technol*. 133: 149-166.
16. Bryden, W.L. (2012): Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Anim. Feed Sci. Technol*. 173: 134-158.
17. Bryden, W.L. (2009): Mycotoxins and mycotoxicoses: significance, occurrence and mitigation in the food chain. In: Ballantyne, B., Marrs, T., Syversen, T.(Eds.), *General and Applied Toxicology*. third ed. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK, 3529-3553.
18. Bryden, W.L., Cumming, R.B., Balnave, D. (1979): The influence of vitamin A status on the response of chickens to aflatoxin B<sub>1</sub> and changes in liver lipid metabolism associated with aflatoxicosis. *Br. J. Nutr.* 41: 529-540.
19. Bútron, A, Revilla, P, Ordás, A, Malvar, R.A. (2009): Resistance to reduce corn borer damage in maize for bread, in Spain. *Crop Protection*, 28: 1-5.
20. Carson, M.S., Smith, T.K. (1983a): Role of bentonite in prevention of T-2 toxicosis in rats. *J. Anim Sci*, 57: 1498-1506.
21. CAST (Council for Agricultural Science and Technology) (2003): *Mycotoxins: Risks in plant, animal and human systems*. Ames, Iowa, USA.
22. Cheeke, P.R. (1998). *Natural Toxicants in Feeds, Forages and Poisonous Plants*. Interstate Publishers, Inc, Danville, USA.
23. Chelkowski, J., Szebiotko, K., Golinski, P., Buchowski, M., Godlewska, B., Radomyska, W., Wiewiorowska, M. (1982): Mycotoxins in cereal grain. Part 5. Changes of cereal grain biological value after ammoniation and mycotoxins (ochratoxine) inactivation. *Nahrung*, 26: 1-7.
24. Chowdhury, S.R., Smith, T.K. (2004): Effects of feeding blends of grains naturally-contaminated with *Fusarium* mycotoxins on performance and metabolism of laying hens. *Poult. Sci.* 83: 1849-1856.
25. Cleveland, T.E., Dowd, P.E., Desjardins, A.E., Deepak, B., Cotty, P.J. (2003): United States Department of Agriculture Agriculture research on pre-harvest prevention of mycotoxins and mycotoxigenic fungi in US crops. *Pest. Man. Sci.* 59: 629-642.
26. Coffey, M.T., Hagler JR. W.M., Cullen, J.M. (1989): Influence of dietary protein, fat or amino acids on the response of weanling swine to aflatoxin B<sub>1</sub>. *J Anim Sci*, 67: 465-472.
27. Cole, R.J. (Ed.), (1986): *Modern Methods in the Analysis and Structural Elucidation of Mycotoxins*. Academic Press, New York, USA.
28. Crowley, S., Mahonya, J., van Sinderena, D. (2013): Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. *Trends in Food Science & Technology* 33: 93-109.
29. Dashwood, T., Negishi, R., Hayatsu, H., Breinholt, V., Hendricks, J., Bailey, G. (1998): Chemopreventive properties of chlorophylls toward aflatoxin B<sub>1</sub>: a review of the antimutagenicity and anticarcinogenicity data in rainbow trout. *Mutat. Res.* 399: 245-514.
30. Dawson, K.A., Evans, J., Kudupoje, M. (2001): Understanding the adsorption characteristics of yeast cell wall preparations associated with mycotoxin binding. In: Lyons, T.P., Jacques, K.A. (Eds.), *Science and Technology in the Feed Industry*. Nottingham University Press, 169-181.



31. Degirmencioglu N., Esecali H., Cokal, Y., Bilgic, M. (2005): From safety feed to safety food: the application of HACCP in mycotoxin control. *Arch.Zootech.* 8:19-32.
32. Devegowda, G., Ravikiran, D. (2009): Mycotoxins and skeletal problems in poultry. *Wld. Mycotoxin J.* 2: 203-208.
33. Devegowda, G., Raju, M.V.L.N., Afzali, N., Swamy, H.V.L.N. (1996): *Saccharomyces cerevisiae* and mannanoligosaccharides to counteract aflatoxicosis in broilers. *Proceedings of Australian poultry science symposium Sydney*, 103-106
34. Devegowda, G., Aravind, B.I.R., Rajendra, K., Morton, M.G., Baburathna, A., Sudarshan, C. (1994): A biological approach to counteract aflatoxicosis in broiler chickens and ducklings by the use of *Saccharomyces cerevisiae* cultures added to feed. In: *Biotechnology in the Feed Industry, Proceedings of 10th Alltech's Annual Symposium* (T.P. Lyons and K.A. Jacques, eds). Nottingham University Press, Loughborough, Leics, UK. 235-245.
35. Dill - Macky, R., Jones, R. K. (2000): The effect of previous crop residues and tillage on *Fusarium* head blight of wheat. *Plant Dis.* 84: 71-76.
36. Döll, S., Gericke, S., Dänicke, S., Raila, J., Ueberschar, K.H., Valenta, H., Schnurrbusch, U., Schweigert, F.J., Flachowsky, G. (2005): The efficacy of a modified aluminosilicate as a detoxifying agent in *Fusarium* toxin contaminated maize containing diets for piglets. *J Anim Physiol Anim Nutr* (Berlin), 89: 342-358.
37. Domijan, A.M., Peraica, M., Zelender, V., Cvjetković, B., Jurjević, Z., Topolovec-Pintaric, S., Ivic, D. (2005): See-borne fungi and ochratoxin A contamination of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in the Republic of Croatia. *Food Chem Toxicol*, 43: 427-432.
38. Dorner, J.W. (2008): Management and prevention of mycotoxins in peanuts. *Food Addit Contam, Part A*, 25: 203-208.
39. Driehuis, F., Spanjer, M.C., Scholten, J.M., Te Giffel, M.C. (2008a): Occurrence of mycotoxins in feedstuffs of dairy cows and estimation of total dietary intakes. *J. Dairy Sci.* 91: 4261-427.
40. Driehuis, F., Spanjer, M.C., Scholten, J.M., Te Giffel, M.C. (2008b): Occurrence of mycotoxins in maize, grass and wheat silage for dairy cattle in the Netherlands. *Food Addit. Contam. B* 1, 41-50.
41. Dwyer, M.R., Kubena, L.F., Harvey, R.B., Mayura, K., Sarr, A.B., Buckley, S., Bailey, R.H., Phillips, T.D. (1997): Effects of inorganic adsorbents and cyclopiazonic acid in broiler chickens. *Poult Sci*, 76:1141-1149.
42. Edrington, E.S., Kubena, L.F., Harvey, R.B., Rottinghaus, G.E. (1997): Influence of super activated charcoal on the toxic effects of aflatoxin or T-2 toxin in growing broilers. *Poult Sci*, 76:1205-1211.
43. El-Nezami, H., Polychronaki, N., Samlminen, S., Mykkänen, H. (2002): Binding rather than metabolism may explain the interaction of two food-grade *Lactobacillus* strains with zearalenone and its derivative alpha zearalenol. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 3545-3549.
44. Ewards, S.G. (2004): Influence of agricultural practices on *Fusarium* infection of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecenes mycotoxins. *Toxicol. Lett.* 153: 29-35.
45. Fandohan, P., Ahouansou, R., Houssou, P., Hell, K., Marasas, W.F.O., Wingfield, M.J. (2006): Impact of mechanical shelling and dehulling on *Fusarium* infection and fumonisin contamination in maize. *Food Addit Contam*, 23: 415-421.
46. Fink-Gremmels, J. (2005). *Mycotoxins in forages*. In: Diaz, D. 1 E. (Ed.), *The Mycotoxin Blue Book*. Nottingham University Press, Nottingham, UK, 249-268.
47. Fink-Gremmels, J. (2012) *Animal Feed Contamination*. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, UK. str. 672.
48. Frisvad, J.C. (1995). *Mycotoxins and mycotoxigenic fungi in storage*. In: Jayas, D.S., White, N.D.G., Muir, W.E. (Eds.), *Stored-Grain Ecosystems*. Marcel Dekker, Inc, New York, 251-288.
49. Galvano, F., Piva, A., Ritieni, A., Galvano, G. (2001): Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: a review. *J. Food Prot.* 64: 120-131.
50. Garon, D., Richard, E., Sage, L., Bouchart, V., Pottier, D., Lebailly, P. (2006): Mycofl 1 1 ora and multimycotoxin detection in maize silage: Experimental study. *J.Agric. Food Chem.* 54: 3479-3484.
51. Garrett, K.A., Dendy, S.P., Frank, E.E., Rouse, M.N., Travers, S.E. (2006): Climate change effects on plant disease: genome to ecosystems. *Ann. Rev. Phytopathol.* 44: 489-509.
52. Grbeša, D., Kiš, G., Kočila, P. (2012): Hranjivost suši izloženog kukuruza. *Zbornik radova 8. Savjetovanja uzgajivača goveda u Republici Hrvatskoj*. Str 31-38. Osijek, 15 - 16. studenog 2012.
53. Grbeša, D., Homen, B.; Kiš, G. (2005a.): Razina ulja i proteina u klici i proteina u endospermu zrna kukuruza u tipu tvrdunaca, polutvrdunaca i zubana XL. znanstveni skup hrvatskih agronoma s međunarodnim sudjelovanjem : zbornik radova. 423-424



54. Grbeša, D. 2005b: Mikotoksini zrna kukuruza i mikotoksikoze svinja: agronomski načini sprječavanja. Zbornik radova. Prvo savjetovanje uzgajivača svinja u RH. Stubičke Toplice, 02.i 03. lipnja 2005: 53 – 66.
55. Grbeša, D.. 2013a: Aflatoksini u kukuruzu.. Mljekarski list. 50 (3): 2-10.
56. Grbeša, D. 2013b: Aflatoksični kukuruz u hranidbi mliječnih krava. Mljekarski list. 51(7): 1-8.
57. Grbeša, D., Kljak, K., Pleadin, J., Zadravec, M., Duvnjak, M., 2013c: Mjere za ublažavanje pojave aflatoksina u mlijeku. Kompetentnost laboratorija 2013. Zagreb. Hrvatski laboratoriji CROLAB, 2013. 70-71.
58. Hamilton, P.B., Tung, H.T., Wyatt, R.D., Donaldson, W.E. (1974): Interaction of dietary aflatoxin with some vitamin deficiencies. Poult. Sci. 53: 871-877.
59. Higa-Nishiyama, A., Takahashi-Ando, N., Shimizu, T., Kudo, T., Yamaguchi, I., Kimura, M. (2005): A model transgenic cereal plant with detoxification activity for the estrogenic mycotoxin zearalenone. Transgenic Res, 14: 713-717.
60. Hoenisch, R. W., and Davis, R. M. (1994): Relationship between kernel pericarp thickness and susceptibility to *Fusarium* ear rot in field corn. Plant Dis. 78: 517-519.
61. Holmberg, T., Kaspersson, A., Larsson, K., Pettersson, H. (1989): Aflatoxin production in moist barley treated with suboptimal doses of formic and propionic acid. Acta Agric Scand, 39: 457-464.
62. Hussein, H.S., Brasel, J.M., (2001): Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on human and animals. Toxicology 167: 101-134.
63. Huwig, A., Freimund, S., Käppeli, O., Dutler, H. (2001): Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. Toxicol. Lett. 122, 179-188.
64. Jayashree, T.; Subramanyam, C. (2000): Oxidative stress as a prerequisite for aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. Free Radic. Biol. Med. 29: 981-985.
65. Jones, R.K., Duncan, H.E., Hamilton, P.B. (1981): Planting date, harvest date, irrigation effects on infection and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in field corn. Phytopathology, 71: 810-816.
66. Jouney, J.P. (2007): Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. Animal Feed Sci. and Techn. 37: 342-362.
67. Kabak, B. (2010): The fate of mycotoxins during thermal food processing. J. Sci. Food Agric. 89: 549-554.
68. Kabak, B., Dobson, A.D. (2009): Biological strategies to counteract the effects of mycotoxins. J. Food Prot, 72: 2006-2016.
69. Kabak, B., Dobson, A.D.W., Var, I. (2006): Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 46: 593-619.
70. Kim, J.H.; Yu, J.J.; Mahoney, N.; Chan, K.L.; Molyneux, R.J.; Varga, J.; Bhatnagar, D.; Cleveland, T.E.; Nierman, W.C.; Campbell, B.C. (2000): Elucidation of the functional genomics of antioxidant-based inhibition of aflatoxin biosynthesis. Int. J. Food Microbiol. 2008, 122: 49-60.
71. Kljak, K., Svečnjak, Z.; Grbeša, D. 2009: Effect of hybrid and growing season on the total phenolic content in corn grain. XXIIth International Conference EUCARPIA 'Maize and Sorghum Breeding in the Genomics Era', Book of Abstracts, 133-133
72. Kung, L., Jr., Taylor, C. C., Lynch, M. P., Neylon, J. M. (2003): The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 86: 336-343.
73. Kushiro, M. (2008): Effects of milling and cooking processes on the deoxynivalenol content in wheat. Int J Mol Sci, 9: 2127-2145.
74. Lacey, J. (1991): Natural occurrence of mycotoxins in growing and conserved forage crops, in Smith J.E. and Henderson, R.S., Mycotoxins and Animal Foods, CRC Press, Boca Raton, FL, 363-397.
75. Lanza, G.M., Washburn, K.W., Wyatt, R.D., Edwards, H.M. (1981): The effect of linoleic acid on broiler response to graded levels of aflatoxin. Arch. Geflugel. 45: 206-211.
76. Lee, U-S, Jang, H-S, Tanaka, T., Oh, Y-j, Cho C-M, Ueno, Y. (1987): Effect of milling on decontamination of *Fusarium* mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol, and zearalenone in Korean wheat. J.Agric Food Chem, 35: 126-129.
77. Lopez-Garcia, R., Mallman, C.A., Pineiro, M. (2008): Design and management of an integrated system for ochratoxin A in the coffee production chain. Food Addit. Contam. 25: 231-240.
78. Mansfield, M.A., Kuldau, G.A. (2007): Microbiological and molecular determination of mycobiota in fresh and ensiled maize silage. Mycologia 99: 269-278.
79. McMillian, W.W., Widstrom, N.W., Wilson, D.M. (1987): Impact of husk type and species of infesting insects on aflatoxin contamination in preharvest corn at Tifton, Georgia. Journal of Entomological Science 22: 307-310.

80. Meister, U., Springer, M. (2004): Mycotoxins in cereals and cereal products—occurrence and changes during processing. *J. Appl. Bot. Food Qual.* 78: 168–173.
81. Molnar, O., Schatzmayr, G., Fuchs, E., Prillinger, H. (2004): *Trichosporon mycotoxinivorans* sp. Nov., a new yeast species useful in biological detoxification of various mycotoxins. *Syst Appl Microbiol*, 27: 661–671.
82. Munkvold, G. P. (2003): Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize. *Ann. Rev. Phytopathol.* 41: 99–116.
83. Norred, W.P., Voss, K.A., Bacon, C.W., Riley, R.T. (1991): Effectiveness of ammonia treatment in detoxification of fumonisin-contaminated corn. *Food Chem. Toxicol.* 29: 815–819.
84. Oguz, H. (2011): A review from experimental trials on detoxification of aflatoxin in poultry feed. *Eurasian J. Vet. Sci.* 27: 1–12.
85. Oliveira, T.R., Jaccoud-Filho, S. D., Henneberg, I., Milton, D.M., Mottin- Demiate, I., Pinto, A.T.B., Machinski Jr., M., Barana, AC. (2009): Maize (*Zea Mays* L) landraces from the southern region of Brazil: contamination by *Fusarium* sp, zearalenone, physical and mechanical characteristics of the kernels. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 52: 1–5.
86. Ono, E.Y., Sasaki, E.Y., Hashimoto, E.H., Hara, M.L.N., Correa, B., Itano, E.N., Sugiura, T., Ueno, Y., Hirooka, E.Y. (2002): Post-harvest storage of corn: effect of beginning moisture content on mycoflora and fumonisin contamination. *Food Addit Contam.* 19: 1081–1090.
87. Payne, G.A. (1999): Ear and kernel rots. In: White, D.G. (Ed.), *Compendium of Corn Disease*, thirded. APS Press, St.Paul, MN, 44–47.
88. Pearson, T.C., Wicklow, D.T., Pasikatan, M.C. (2004): Reduction of aflatoxin and fumonisin contamination in yellow corn by high speed dual-wavelength sorting. *Cereal Chem.* 81: 490–498.
89. Petterson, H. (2012): Mycotoxin contamination of animal feed. U: *Animal feed contamination* (Fink-Gremmels, J., ur.), Woodhead Publishing Limited, Cambridge, Velika Britanija, 234–285.
90. Phillips, T.D., Afriyie-Gyawu, E., Williams, J., Huebner, H., Ankrah, N.A., Ofori-Adjei, D., Jolly, P., Johnson, N., Taylor, J., Marroquin-Cardona, A., Xu, L., Tang, L., Wang, J.S. (2008): Reducing human exposure to aflatoxin through the use of clay: a review. *Food Addit. Contam.* 25: 134–145.
91. Phillips, T.D. (1999): Dietary clay in the chemoprevention of aflatoxin induced disease. *Toxicological Science*, 52: 118–126.
92. Phillips, T.D., Kubena, L.F., Harvey, R.B., Taylor, D.R., Heidelbauch, N.D. (1988): Hydrated sodium calcium aluminosilicate: A high affinity sorbent for aflatoxin. *Poult Sci*, 67: 243–247.
93. Pittet, A. (1998): Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds – an updated review. *Rev. Med. Vet. (Toulouse)*, 149: 479–492.
94. Pitt, J. I. (2004): Biocontrol of aflatoxins in peanuts. In D. Barug, H. van Egmond, R. Lopez- Garcia, T. van Osenbruggen, & A. Visconti (Eds.), *Meeting themycotoxin menace*. Wageningen, Netherlands: Wageningen Academic Publishers. 141–152.
95. Pitt, J. I., Hocking, A. D. (2009): *Fungi and food spoilage* (3rd ed.). New York: Springer.
96. Pitt, A., Marta, J.I., Taniwaki, H., Cole, M.B. (2012): Mycotoxin production in major crops as influenced by growing, harvesting, storage and processing, with emphasis on the achievement of Food Safety Objectives. *Food Control* 32: 205–215.
97. Pravilnik o nepoželjnim i zabranjenim tvarima u hrani za životinje (NN 118/2007. i 80/2010.)
98. Ramos, A.J., Hernandez, E. (1997): Prevention of aflatoxicosis in farm animals by means of hydrated sodium calcium aluminosilicate addition to feedstuffs: a review. *Anim Feed Sci Technol*, 65: 197–206.
99. Rawal, S., Kim, J.E., Coulombe Jr., R.A. (2010): Aflatoxin B1 in poultry: toxicology, metabolism and prevention. *Res. Vet. Sci.* 89: 325–331.
100. Reddy, G.R., Tilak, T.B.G., Krishnamurthi, D. (1973): Susceptibility of vitamin A-deficient rats to aflatoxin. *Food Cosmet. Toxicol.* 11: 467–472.
101. Ross, P.F., Rice, L.G., Reagor, J.C., Osweiler, G.D., Wilson, R.M., Nelson, H.A., Owens, D.L., Plattner, R.D., Harlin, K.A., Richard, J.L. (1991): Fumonisin B1 concentrations in feeds from 45 confirmed equine leukoencephalomalacia cases. *J Vet Diagn Invest*, 3: 238–241.
102. Samarajeewa, U., Sen, A.C., Cohen, M.D., Wei, C.I. (1990): Detoxification of aflatoxins in foods and feeds by physical and chemical methods. *J. Food Prot*, 53: 487–501.
103. Schatzmayr, G., Zehner, F., Täubel, M., Schatzmayer, D., Klimitsch, A., Loibner, A.P., Binder, E.M. (2006): Microbiologicals for deactivating mycotoxins. *Mol Nutr Food Res*, 50: 543–551.
104. Schmidt, R. J., Kung, L., Jr. (2010): The effects of *Lactobacillus buchneri* with or without a homolactic bacterium on the fermentation and aerobic stability of corn silages made at different locations. *Journal of Dairy Science*, 93: 1616–1624.

105. Schneweis, I., Meyer, K., Ritzmann, M., Hoffmann, P., Dempfle, L., Bauer, J. (2005): Influence of organically or conventionally produced wheat on health, performance and mycotoxin residues in tissues and bile of growing pigs. *Arch Anim Nutr*, 59: 155-163.
106. Schumann, B., Dänicke, S., Meyer, U., Ueberschar, K.H., Breves, G. (2007): Effects of different levels of ergot in concentrates on the growing and slaughtering performance of bulls and on carry-over into edible tissue. *Arch Anim Nutr*, 61: 357-370.
107. Scudamore, K.A., Baillie, H., Patel, S., Edwards, S.G. (2007): Occurrence and fate of *Fusarium* mycotoxins during commercial processing of oats in the UK, *Food Addit Contam*, 24: 1374-1385.
108. Scudamore, K.A., Hetmanski, M.T., Chan, H.K., Collins, S. (1997): Occurrence of mycotoxins in raws ingredients used for animal feeding stuffs in the United Kingdom in 1992. *Food Addit Contam*, 14: 157-173.
109. Scudamore, K.A., Nawaz, S., Hetmanski, M.T. (1998): Mycotoxins in ingredients of animal feeding stuffs: II. Determination of mycotoxins in maize and maize products. *Food Addit Contam*, 15: 30-55.
110. Seitz, L.M., Eustace, W.D., Mohr, H.E., Shogren, M.D., Yamazaki, W.T. (1986): Cleaning, milling, and baking tests with hard red winter wheat containing deoxynivalenol, *Cereal Chem*, 63: 146-150.
111. Seitz, L.M., Yamazaki, W.T., Clements, R.L., Mohr, H.E., Andrews, I. (1985): Distribution of deoxynivalenol in soft wheat mill streams, *Cereal Chem*, 62: 467-469.
112. Seligson, F.H., Rotruck, J.F. (1983): Tissue nonprotein sulfhydryl content and weight gain of rats as affected by dietary methionine level. *J. Nutr*, 113: 98-104.
113. Shapira, R., Paster, N. (2004): Control of mycotoxins in storage and techniques for their decontamination. In: Magan, N., Olsen, M. (Eds.), *Mycotoxins in Food. Detection and Control*. CRC Press, Woodhead Publishing Limited, England. 190-223.
114. Siwela, A.H., Siwela, M., Matindi, G., Dube, S., Nziramanga, N. (2005): Decontamination of aflatoxin-contaminated maize by dehulling. *J Sci Food Agric*, 85: 2535-2538.
115. Skaug, M.A. (1999): Analysis of Norwegian milk and infant formulas for ochratoxin A. *Food Addit Contam*, 16: 75-78.
116. Smith, J.W., Hill, C.W., Hamilton, P.B. (1971): Effect of dietary modifications on aflatoxicosis in broiler chicken. *Poult. Sci*, 50: 768.
117. Smith, J.K., Girish, C.K. (2012): Prevention and control of animal feed contamination by mycotoxins and reduction of their adverse effects in livestock. In: *Animal Feed Contamination*. Ed. Fink-Gremmels, J., Woodhead Publishing Limited. Cambridge, UK. 326-351.
118. Sova, Z., Pohunková, H., Reisnerová, H., Slámová, A., Haisl, K. (1991): Hematological and histological response to the diet containing aflatoxin B<sub>1</sub> and zeolite in broilers of domestic fowl. *Acta Vet Brno*, 60: 31-40.
119. Speijers, G.J.A., Speijers, M.H.M. (2004): Combined toxic effects of mycotoxins. *Toxicol. Lett*, 153: 91-98.
120. Surai, P.F. (2002): Natural antioxidants and mycotoxins. In: *Natural Antioxidants in Avian Nutrition and Reproduction*. Nottingham University Press, UK. 455-489.
121. Sutton, J.C. (1982): Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Can. J. Plant Pathol*, 4: 195-209.
122. Teller, R.S., Schmidt, R.J., Whitlow, L.W., Kung Jr., L. (2012): Effect of physical damage to ears of corn before harvest and treatment with various additives on the concentration of mycotoxins, silage fermentation, and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci*, 95: 1428-1436.
123. Tejada-Castaneda, Z.I., Avila-Gonzalez, E., Casaubon-Huguenin, M.T., Cervantes-Olivares, R.A., Vasquez-Pelaez, C., Hernandez-Baumgarten, E.M., Moreno-Martinez, E. (2008): Biodegradation of aflatoxin-contaminated chick feed. *Poultry Science*, 87: 1569-1576.
124. Thalib, A. (1995): Detoxification of aflatoxin in feed with a binder of polyvinylpyrrolidone. *J Ilmiah Peternakan Ternak Klepu (Indonesia)* 1: 43-48.
125. Tomašević-Canović, M., Daković, A., Rottinghaus, G., Matijasević, S., Duricic, M. (2003): Surfactant modified zeolites: new efficient adsorbents for mycotoxins. *Micro Mes Mater*, 61: 173-180.
126. Trigo-Stockli, D.M. (2002): Effect of processing on deoxynivalenol and other trichothecenes. *Adv Exp Med Biol*, 504: 181-188.
127. Van Rensburg, C.E.J., Van Ryssen, J.B.J., Casey, N.H., Rottinghaus, G. (2006): In Vitro and In Vivo Assessment of Humic Acid as an Aflatoxin Binder in Broiler Chickens. *Poultry Science*, 85: 1576-1583.
128. Varga, J., Toth, B. (2005): Novel strategies to control mycotoxins in feeds: a review. *Acta Vet Hung*, 53: 189-203.
129. Veldman, A. (1992): Effect of sorbentia on carry-over of aflatoxin from cow feed to milk, *Milchwissenschaft*, 47, 777-780.

130. Veltmann, J.R., Wyatt, R.D., Voigt, M.N. (1981). The effect of varying the total sulphur amino acid content in the diets of chicks with aflatoxicosis. *Poult. Sci.* 60: 1748.
131. Wicklow, D.T. (1995): The mycology of stored grain: an ecological perspective. In: Jayas, D.S., White, N.D.G., Muir, W.E. (Eds.), *Stored-Grain Ecosystems*. Marcel Dekker, Inc, New York. 197-249.
132. Wu, F., Munkvold, G.P. (2008): Mycotoxin in ethanol co-products: modelling economic impacts on the livestock industry and management strategies. *J. Agric. Food Chem.* 56: 3900-3911.
133. Yoon, Y., Baeck, Y.J. (1999): Aflatoxin binding and antimutagenic activities of *Bifidobacterium bifidum* HY strains and their genotypes. *Koeran Journal of Dairy Science*, 21: 291-298.
134. Yumbe-Guevara, B.E., Imoto, T., Yoshizawa, T. (2003): Effects of heating procedures on deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone levels in naturally contaminated barley and wheat. *Food Addit Contam.* 20: 1132-1140.

## SUMMARY

Food must be free of substances and microorganisms threatening the health of humans and animals. Mycotoxins are recognized as one of the biggest and highly outspread threat that appears in the food chain, especially in stressful extreme weather conditions. There are no means of complete prevention of appearance of toxigenic molds and mycotoxins, so one must conduct complex and comprehensive mitigation measures to reduce their concentration by (1) reducing growth of pathogenic molds and mycotoxins in feed materials throughout the whole chain of productions (2) removing the produced mycotoxins from the feed materials or (3) from the animal's gastrointestinal tract. Decrease in the incidence and mycotoxins negative effects can be achieved merging of the knowledge in the fields of crop biology, agronomy, fungi ecology, methods of harvest, storage, feed processing and detoxification strategies. The most efficient method of mycotoxins control is the mold growth prevention in the field, which contains pre-harvest measures of the crop rotation, irrigation, adequate fertilization, weed control, planting resistant crops, early sowing and harvesting, the use of non-toxic strains of mold and other measures. However, in years with favourable weather for the growth of mold, pre-harvest measures do not eliminate mycotoxins from the feeds. The harvest and storage of dry and whole grains that are purged, elevated, and stored in sanitized and fumigated storages reduces the increase in initial contamination. Physical measures: peeling, separating, sorting, washing and dissolving of mycotoxins, than hydrothermal treatment and additional methods carried out before and/or after storage, and before feeding usually remove one or few of the present mycotoxins, but not all of them. Chemical treatment also efficiently removes some of the mycotoxins but not all of them. Following means can be used: calcium hydroxide, ammonium hydroxide, monomethylamine, sodium bisulfite, wet and dry ozone, chlorine, hydrogen peroxide, ascorbic acid, hydrochloric acid, benzoic acid, urea, sulfur dioxide, formaldehyde, ammonia and ammonium hydroxide, copper sulphate and additional chemicals. For the conservation of forages antifungal acids can be used. Biological measures include utilization of microorganisms that bind or destroy certain mycotoxins, the use of the non-toxic molds and finally the use of mycotoxin destroying enzymes. Numerous substances that inhibit the absorption of mycotoxins are also added to feeds. Among which the most commonly used are variety of silicate clay that successfully bind aflatoxin but poorly bind other mycotoxins. Organic binders show more expanded range of mycotoxins binding. The measures that help in al-

leviating the adverse effects of mycotoxins once they are consumed are: good nutritional practices, added antioxidants and substances that help the liver metabolism. Additionally, the possibility for the vaccination of domestic animals is currently explored. In conclusion, one can say that only the use of joint measures in the entire production chain, rather than individual measures, reduces levels of mycotoxins to the acceptable limit for farm animals.

Key words: mycotoxins, animal feeds, mitigation measures